

# MODÈLES ANIMAUX DE RETARD DE CROISSANCE INTRA-UTÉRIN D'ORIGINE VASCULAIRE

## ANIMAL MODELS OF INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION OF VASCULAR ORIGIN

Par Pascale CHAVATTE-PALMER<sup>(1)(2)</sup>, Olivier MOREL<sup>(1)(2)(3)</sup>, Frédéric PACHY<sup>(1)(2)</sup>,  
Vassilis TSATSARIS<sup>(1)(2)(4)</sup>, Michel BONNEAU<sup>(2)(5)</sup>  
(Communication présentée le 6 novembre 2008)

### RÉSUMÉ

Les défauts de perfusion placentaire compliquent environ 7 % des grossesses. Ils peuvent entraîner un retard de croissance intra-utérin (RCIU) et une pré-éclampsie, et posent un problème majeur de santé publique. La physiopathologie de ces défauts n'est pas totalement connue. Les études chez la femme sont limitées à des examens non invasifs, échographiques et biologiques, pour des raisons éthiques évidentes. Il est donc important de disposer de modèles animaux expérimentaux pour appréhender cette pathologie. Nous n'abordons pas ici les modèles de sous-nutrition maternelle, qui ne nous semblent pas complètement appropriés pour reproduire les aspects physiopathologiques observés dans les pays développés. Les modèles animaux de RCIU d'origine vasculaire jusqu'ici utilisés sont décrits: modèles basés sur l'application d'un stress à la mère, modèles génétiques et modèles chirurgicaux. Enfin. Nous décrivons aussi brièvement le modèle d'hypoperfusion contrôlée chez la brebis vigile, actuellement mis au point au laboratoire.

**Mots-clés :** placenta, retard de croissance intra-utérin, modèles animaux, vascularisation.

### SUMMARY

*Placental insufficiencies can complicate up to 7% of all pregnancies. They can lead to intrauterine growth retardation (IUGR) and preeclampsia, and represent a major public health concern. The pathophysiology of these placental anomalies is not yet fully understood. For obvious ethical reasons, studies in pregnant women are limited to non-invasive techniques, such as ultrasound scans and maternal blood tests. Therefore, animal models of IUGR play an important role in the study of this condition. Because the models using maternal undernutrition to induce foetal IUGR are not as appropriate to mimic the vascular IUGR observed in developed countries, we describe the animal models of vascular IUGR used currently: models based on an application of stress to the mother, genetic models, and surgical models. Finally, we describe briefly the controlled hypoperfusion model in non-anaesthetized ewes, currently developed in our laboratory.*

**Key words:** placenta, intra-uterine growth retardation, animal models, vascularization.

(1) INRA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy en Josas, France.

(2) Fondation PremUp, 4 av. de l'Observatoire, F-75006 Paris, France.

(3) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Lariboisière, 2 rue A. Paré, Paris.

(4) Maternité Port-Royal, 134 Bd de Port-Royal, 75014 Paris.

(5) INRA, CRII, F-78350 Jouy en Josas, France.

## LE RETARD DE CROISSANCE INTRA-UTÉRIN EN MÉDECINE HUMAINE

La régulation de la croissance fœtale normale est multifactorielle. Elle dépend à la fois du patrimoine génétique du fœtus, de l'environnement maternel et fœtal, ainsi que du bon fonctionnement de l'unité utéro-placentaire qui assure un apport adéquat en nutriments et en oxygène. Un petit poids pour l'âge gestationnel ou un retard de croissance intra-utérin (RCIU) sont associés à une plus grande mortalité périnatale, à une augmentation de la morbi-mortalité infantile, ainsi qu'à un risque plus élevé de survenue de maladies cardio-vasculaires ou de syndromes métaboliques à l'âge adulte (Barker *et al.* 2002 ; Gluckman & Hanson 2004 ; Gluckman & Hanson 2006).

### Définitions

Les termes de « retard de croissance intra-utérin » (RCIU) et « petit pour l'âge gestationnel » (PAG) sont souvent liés mais ne sont pas pour autant synonymes. Ainsi, le RCIU désigne une réduction pathologique du profil de croissance attendu d'un fœtus, habituellement en relation avec un problème survenu *in utero*. De cette réduction de croissance peut résulter un petit poids de naissance, qui est défini par un poids inférieur au dixième percentile dans une population donnée de même âge gestationnel (seuil habituellement retenu chez l'homme : 2500 g à terme). Le PAG se réfère uniquement au poids de naissance. Il peut désigner l'état des enfants ne présentant pas de RCIU : ces enfants dits « eutrophes », programmés génétiquement pour exprimer un petit poids, ne sont pas atteints d'une quelconque affection. *A contrario*, un enfant « programmé » pour un poids de 3.900 g à terme peut ne peser que 2.600 g suite à un véritable RCIU et présenter des signes cliniques d'hypotrophie, sans entrer pour autant dans la catégorie du PAG. Cette distinction, primordiale pour l'appréhension des mécanismes et des conséquences du RCIU, n'est malheureusement pas toujours évidente dans de nombreux travaux. Le diagnostic de RCIU ne peut être établi que par un suivi longitudinal, au cours de la grossesse, de la croissance fœtale. Les paramètres de croissance fœtale, utilisés en médecine humaine, sont le périmètre crânien, le périmètre abdominal et la longueur fémorale. Les mesures sont réalisées par une technique standardisée afin d'être reproductible. Leurs résultats sont reportés sur des courbes de croissance établies pour une population donnée. Ce suivi dynamique permet de s'assurer de la régularité de la croissance fœtale en percentiles. La prévalence des enfants présentant un petit poids de naissance est estimée aux alentours de 8 % : ce chiffre représente environ 40.000 enfants pesant moins de 2.500 g par an aux États-Unis. Pour les raisons évoquées plus haut, la prévalence exacte du RCIU n'est pas connue.

### La pré-éclampsie

L'étude des mécanismes physiopathologiques du RCIU présente une importance majeure pour la santé publique, dans le but d'aider à développer une politique de prévention.

Les RCIU en relation avec une infection *in utero* ou une cause génétique sont souvent associés à des malformations dont l'importance va déterminer le pronostic. Les petits poids de naissance en rapport avec une sévère dénutrition maternelle sont rencontrés essentiellement dans les pays du tiers-monde ou les pays émergents. En revanche, les RCIU d'origine dite « vasculaire », en relation avec une hypoperfusion de l'unité utéro-placentaire lors de maladie pré-éclampsique, représentent le problème essentiel de la médecine périnatale occidentale. La pré-éclampsie, maladie spécifique à l'espèce humaine, est à l'origine de 15 à 20 % de la mortalité maternelle dans les pays développés. Elle entraîne aussi une morbi-mortalité néonatale à court et à long termes : décès, naissance prématurée, RCIU. Sa fréquence est évaluée entre 2 et 7 % chez les patientes nullipares ne présentant pas de facteurs de risque.

La physiopathologie de la pré-éclampsie n'est pas encore complètement connue à ce jour. Bien que les manifestations maternelles et fœtales ne soient pas toujours concordantes, il est clair que le placenta est directement en cause dans sa pathogenèse. Un défaut de placentation est à l'origine d'une réaction maternelle complexe, mettant en jeu une activation de facteurs pro-inflammatoires et une dysfonction endothéliale.

L'affection évolue en deux temps. Entre 8 et 16 semaines d'aménorrhée, se produit un défaut d'invasion trophoblastique entraînant une adaptation vasculaire de l'unité utéro-maternelle. Les modifications physiologiques vasculaires maternelles sont incomplètes : les artères utéro-placentaires conservent une média et un certain degré de contractilité. Il s'en suit une élévation des résistances vasculaires systémiques, suivie d'une hypertension et d'un dysfonctionnement du système endothélial induit par la production de radicaux d'oxygène et de peroxydes toxiques. L'accroissement de l'apoptose entraîne la libération de fragments du syncytiotrophoblaste dans la circulation et la libération de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) qui induit une altération de la perméabilité capillaire perturbant la coagulation. L'évolution naturelle peut se faire dans les formes graves vers le « HELLP syndrom » (Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets) ou la crise d'éclampsie. Sur le versant fœtal, le défaut de placentation va pouvoir être à l'origine d'un retard de croissance intra-utérin, d'un oligoamnios et d'une hypoxie chronique.

Chez la femme, l'étude de la pré-éclampsie en cours de grossesse est limitée à des examens non invasifs, échographiques et biologiques. Il est donc important de disposer de modèles animaux expérimentaux pour appréhender cette pathologie.

### Conséquences des RCIU et programmation fœtale

Comme évoqué précédemment, un petit poids de naissance est souvent associé à une augmentation du risque de mortalité et de morbidité périnatale, avec des incidences accrues d'acidose fœtale *per partum*, d'hypoglycémie néonatale, d'hypocalcémie, de syndromes infectieux, de détresse respiratoire et d'entérocolite ulcéro-nécrosante. Ce risque est corrélé à la sévérité du RCIU.

Des études épidémiologiques ont démontré que l'incidence des maladies métaboliques de l'adulte (obésité, hypertension, résistance à l'insuline, syndrome métabolique) est augmentée chez les individus ayant souffert de RCIU (Barker *et al.* 2002; Gluckman & Hanson 2004, 2006). Une des hypothèses physiopathologiques retenue est celle d'un dérèglement permanent du métabolisme glucidique, conséquence de la sous-nutrition in utero, caractérisé par une capacité réduite à sécréter de l'insuline et une insulino-résistance. Un dérèglement permanent de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien est également évoqué. Ces dysfonctionnements métaboliques à long terme dépendraient du moment de la survenue du RCIU et de son expression : dans les RCIU symétriques (portant sur l'ensemble des paramètres biométriques), le risque de développer une hypertension est le plus élevé, alors que le risque de développer un diabète de type 2 augmente en cas de RCIU asymétrique (portant essentiellement sur le périmètre abdominal).

Ce phénomène d'importance pour la santé humaine est communément appelé programmation foetale, ou programmation métabolique. De nombreux modèles animaux sont utilisés pour analyser les mécanismes physiologiques et moléculaires sous-jacents, la plupart imposant à la mère des restrictions dans les apports nutritionnels pour induire un RCIU chez son fœtus (Anthony *et al.* 2003; Schröder 2003; Armitage *et al.* 2005; Langley-Evans *et al.* 2005; Vuguin 2007; McMillen *et al.* 2008).

## MODÈLES ANIMAUX

Il existe de nombreux modèles animaux de RCIU d'origine vasculaire, mettant en jeu des approches multiples. Le **tableau 1** résume les particularités anatomiques et physiologiques qui jouent un rôle important dans le choix de l'espèce animale.

Dans la suite de cet article, nous avons choisi de ne pas aborder les modèles de sous-nutrition maternelle, qui ne nous semblent pas complètement appropriés pour reproduire les conditions d'une diminution des transferts placentaires. Pour ce qui est des autres modèles, ils sont classés en fonction de la méthode d'induction du RCIU ; nous terminerons par l'approche actuellement développée au laboratoire chez l'ovine.

### Stress maternel

L'administration de glucocorticoïdes durant la grossesse réduit le poids à la naissance et accélère la maturation pulmonaire et celle d'autres organes fœtaux. En effet, les glucocorticoïdes synthétiques traversent le placenta, à l'inverse du cortisol qui est converti en cortisone inactive par une enzyme placentaire, la 11,-hydroxystéroïde déshydrogénase (11,-HSD) de type 2 (Seckl 2004). Lors de stress maternel important, on observe cependant une réduction du poids fœtal consécutive au passage transplacentaire du cortisol maternel.

Ainsi, on peut utiliser l'administration exogène de corticostéroïdes ou un stress maternel pour induire un RCIU dans des modèles animaux, mais ceux-ci correspondent plutôt aux cas

	Souris	Lagomorphes	Porcins	Ruminants	Primates	Commentaires
Coût	++++	+++	+	+	-	Bien que le coût individuel de la souris soit moins élevé, le nombre élevé d'animaux nécessaires peut entraîner un surcoût, tout comme l'accès à des modèles transgéniques.
Physiologie placentaire	+++	+++	++	++	++++	<b>Primates, lagomorphes et rongeurs</b> : placentation hémochoriale (invasive) comme chez la femme. Le placenta, chez la lapine, est plus proche du placenta humain, comparé à celui des rongeurs. <b>Ruminants et porcins</b> : placentation épithéliochoriale non-invasive.
Développement fœtal	++	++	++	+++	++++	Les espèces <b>polytoques</b> sont moins représentatives pour l'homme par rapport aux espèces <b>monotoques</b> .
Manutention	++++	++++	++	+++	++	<b>Primates</b> : manutention plus difficile du fait des risques de morsure,...
Acceptabilité	++++	++++	+++	+++	+/-	Clairement le modèle primate présente une acceptabilité sociale très faible, posant des limites importantes au niveau éthique.
Chirurgie	+	+++	++++	++++	+++	La grande taille des ruminants permet un accès chirurgical et une utilisation de l'imagerie médicale beaucoup plus facile à mettre en place que sur les rongeurs. De plus, des outils spécifiques à l'homme peuvent être directement utilisés en chirurgie chez la brebis.
Outils de génomique fonctionnelle	++++	++	+++	+++	+++	Bien que les outils de génomique restent plus variés pour les rongeurs, on note un développement rapide de ces outils pour les autres espèces.
Modèles transgéniques	++++	+++	+	++	-	La souris a été longtemps la seule espèce pour laquelle des modèles transgéniques étaient disponibles. Des modèles lapins existent maintenant. Avec le développement du clonage, la transgénèse devient possible chez les ruminants. De plus, l'utilisation des RNAi permet en partie de se passer de modèles transgéniques.

**Tableau 1 :** Pertinence des modèles animaux et disponibilité des outils, classé de - (peu avantageux ou peu disponible) à ++++ (très avantageux ou largement disponible)

cliniques de menace d'accouchement prématuré, lorsque l'administration de glucocorticoïdes, pour l'induction la maturation pulmonaire en prévention du syndrome de détresse respiratoire, est répétée plusieurs fois.

#### **Administration de glucocorticoïdes**

L'induction d'un RCIU suivant l'administration répétée de glucocorticoïdes à des femelles gestantes a été observée dans de nombreux modèles expérimentaux (Fowden & Forhead, 2004).

#### **Stress maternel**

Plusieurs études ont mis en évidence l'induction de RCIU chez des femelles gestantes exposées à des modifications de l'environnement : isolement de ratte gestantes dans un cylindre éclairé trois fois par jour (Lesage *et al.* 2004) ou stress acoustiques imposés à des souris après l'implantation des embryons, soit cinq à sept jours après la fécondation (Haque *et al.* 2004). L'exposition de brebis à un environnement hyperthermique, du premier tiers à la fin de la gestation, a permis d'induire des RCIU asymétriques avec les symptômes fœtaux observés lors des RCIU de type vasculaire, hypoxie et hypoglycémie fœtales, modifications hémodynamiques de la circulation dans le cordon ombilical et les coronaires. La perfusion placentaire n'est cependant pas affectée, restant adaptée à l'augmentation des poids du fœtus et du placenta, alors que le transport transplacentaire de glucose et des acides aminés est réduit (Thureen *et al.* 1992 ; de Vrijer *et al.* 2004 ; Barry *et al.* 2008). On a donc là un modèle assez fidèle à ce qui se passe chez la femme, malgré une placentation épithéiochoriale, d'un type différent de la placentation hémochoriale.

#### **Modèles génétiques**

##### **IGF-I et IGF-II (Insulin Growth Factor)**

Ces deux facteurs jouent un rôle important dans le développement embryonnaire. Plusieurs modèles impliquant l'altération de l'expression de IGF ou de son récepteur ont permis d'induire des RCIU (Baker *et al.* 1993 ; Liu *et al.* 1993). Dans des modèles de RCIU par ligature vasculaire, l'expression placentaire du récepteur de l'IGF-I était significativement diminuée par rapport à celle observée chez les animaux témoins, confirmant l'importance de l'IGF dans la modulation du métabolisme placentaire. Le rôle différentiel des transcrits placentaires et fœtaux de l'IGF-II a par ailleurs été bien décrit chez des souris dont le gène de l'IGF-II a été délété, montrant l'existence de mécanismes épigénétiques intervenant dans l'adaptation de l'apport placentaire à la demande fœtale (Constancia *et al.* 2002).

#### **Modèles chirurgicaux**

L'intérêt majeur des modèles chirurgicaux est d'induire des RCIU asymétriques associées à une hypoxémie chronique *in utero*, une hypoglycémie et une hyperlactatémie, de façon tout à fait comparable aux situations rencontrées dans les RCIU vasculaires humaines (Economides *et al.* 1991).

#### **Caronculectomies**

La résection chirurgicale d'une partie des caroncules avant la mise à la reproduction a été décrite (Robinson *et al.* 1979). Ce modèle ne semble pas parfaitement adapté : en effet, une vascularisation normale est apportée à des placentomes en nombre insuffisant et les échanges transplacentaires sont réduits dès l'implantation. Cette situation est assez éloignée de ce qui est observé chez la femme où l'altération des apports, autant sur le plan quantitatif que qualitatif, consécutive à une hypoperfusion chronique, s'aggrave progressivement.

#### **Embolisations**

Deux types d'embolisation vasculaire par microsphères ont été décrites. La première approche consiste à emboliser les artères utérines (Creasy *et al.* 1972 ; Pelage *et al.* 2002 ; Clapp 2006 ; Laurent *et al.* 2008). Elle présente le défaut principal d'induire une nécrose placentaire concomitante de l'hypoperfusion utérine. Ainsi les conséquences de l'altération fonctionnelle placentaire immédiate viennent s'ajouter à celles de l'hypoperfusion utérine. La seconde est l'embolisation par le versant fœtal. Une nécrose placentaire est également présente mais la vascularisation maternelle des placentomes reste normale (Gagnon *et al.* 1995 ; Galan *et al.* 2005 ; Debarge *et al.* 2007). Cette approche est lourde d'un point de vue expérimental, puisqu'il est nécessaire d'emboliser quotidiennement le fœtus pendant plusieurs heures pour induire un RCIU.

#### **Ligatures artérielles**

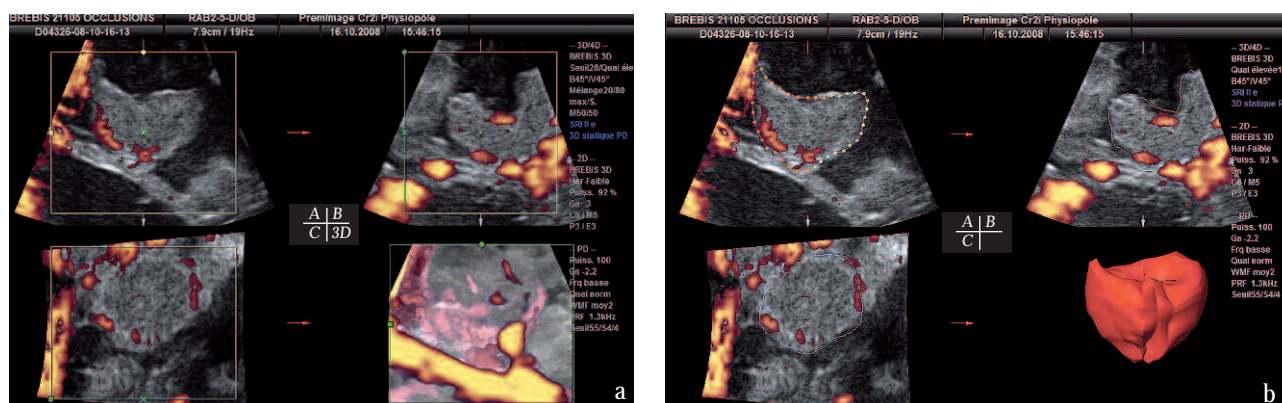
L'induction chirurgicale d'une hypoperfusion utéro-placentaire chronique est une des méthodes les plus fréquemment utilisées. Décrite pour la première fois chez la ratte en 1964, la ligature de l'arcade artérielle utérine vers le 17<sup>e</sup> jour de gestation (Wigglesworth 1964) a largement été reprise par d'autres auteurs (De Prins & Van Assche, 1982 ; Simmons *et al.* 1992 ; Lane *et al.* 2001 ; Simmons *et al.* 2001 ; Alexander 2003 ; Baserga *et al.* 2004). Elle permet d'induire des RCIU avec des conséquences à long terme, chez l'adulte, comme l'obésité, l'intolérance au glucose, l'hypertension, et l'altération du profil enzymatique hépatique.

Les ligatures, bilatérales ou unilatérales, des artères utérines ont également été pratiquées chez la brebis, aux environs de 90 jours de gestation (Lang *et al.* 2002). Cette méthode reproduit des RCIU asymétriques comme ceux d'origine vasculaire, observés en médecine humaine. Elle permet de vérifier que l'importance du RCIU est directement corrélée à l'importance de la réduction de la perfusion utéro-placentaire.

#### **Le modèle du laboratoire**

Depuis quelques années, il est possible de quantifier le degré de vascularisation d'un organe par échographie Doppler 3D (*figure 1*). Il s'agit de la première méthode d'analyse vasculaire, objective, non invasive, permettant d'étudier un organe en temps réel. En effet, jusqu'alors, de telles études nécessitaient une injection de produits de contraste ou de produits radioactifs potentiellement





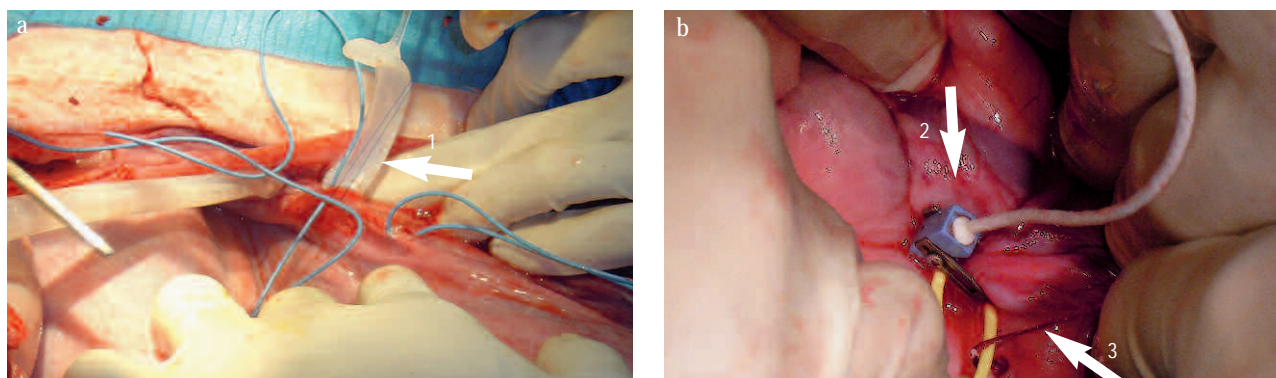
**Figure 1 : Acquisition d'un volume contenant un placentome.**

(a) : Volume brut, apparaissant à l'écran selon trois plans de coupes perpendiculaires (A, B et C). L'image de la partie inférieure droite est une reconstruction 3D automatisée de l'ensemble du volume acquis par la sonde.

(b) : Traçage manuel des limites du placentome (pointillés) effectué dans le plan A, par rotation autour de l'axe tous les 30° ; le volume du placentome ainsi obtenu apparaît dans la partie inférieure droite de l'écran. Le signal vasculaire de ce placentome peut alors être quantifié spécifiquement.

tératogènes ; elles n'étaient donc pas acceptables chez la femme sur le plan éthique. Chez un modèle animal, elles présentaient l'inconvénient de nécessiter une anesthésie. Les études préliminaires effectuées chez la femme enceinte sont très encourageantes, elles permettent de mettre en évidence une nette diminution de la vascularisation placentaire dans les cas de RCIU vasculaire (Merce *et al.* 2004 ; Morel *et al.* 2006a, 2006b ; Zalud & Shaha,

2007). Nous développons actuellement dans notre laboratoire un modèle de RCIU chronique chez la brebis, grâce à la mise en place d'anneaux occlusifs sur le tronc commun des artères utérines et de débitmètres en aval (*figure 2*). Cette méthode permet d'imposer une hypoperfusion dont le niveau est contrôlé et, avec l'apport du Doppler 3D, d'étudier en temps réel ses retentissements sur le placenta et le fœtus.



**Figure 2 : Mise en place (a) d'un anneau occlusif sur le tronc commun des artères utérines et (b) du capteur, en aval, permettant la mesure des flux réels. 1 : anneau occlusif ; 2 : capteur de débitmétrie ; 3 : tronc commun des artères utérines.**

## CONCLUSION

Les modèles décrits dans la littérature ne reproduisent pas strictement les RCIU vasculaires observés dans l'espèce humaine, dont l'origine, très précoce, semble être placentaire. Ils ont cependant permis d'accomplir de grands progrès dans la compréhension des

mécanismes de l'adaptation fœtale à un dysfonctionnement placentaire lors de RCIU et de syndrome métabolique. La méthode que nous développons, en induisant, chez la brebis vigile, une hypoperfusion contrôlée du placenta, que l'on peut faire varier à volonté, devrait assurer une meilleure connaissance du rôle de la circulation foeto-placentaire dans la croissance fœtale.

## BIBLIOGRAPHIE

- Alexander, B. T. 2003. Placental insufficiency leads to development of hypertension in growth-restricted offspring. *Hypertension* 41 : 457–462.
- Anthony, R. V., Scheaffer, A. N., Wright, C. D., Regnault, T. R. H. 2003. Ruminant models of prenatal growth restriction. *Reprod Suppl.* 61 : 183–194.
- Armitage, J. A., Taylor, P. D., Poston, L. 2005. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J Physiol. (Lond)* 565 : 3–8.
- Baker, J., Liu, J. P., Robertson, E. J., Efstratiadis, A. 1993. Role of Insulin-like growth factors in embryonic and post-natal growth. *Cell* 75 : 73–82.
- Barker, D. J. P., Eriksson, J.-G., Forsen, T., Osmond, C. 2002. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology* 31 : 1235–1239.

- Barry, J. S., Rozance, P.J., Anthony, R. V. 2008. An Animal Model of Placental Insufficiency-Induced Intrauterine Growth Restriction. *Seminars in Perinatology* 32: 225–230.
- Baserga, M., Bertolotto, C., MacLennan, N.K., Hsu, J.-L., Pham, T., Laksana, G. S., Lane, R. H. 2004. Uteroplacental insufficiency decreases small intestine growth and alters apoptotic homeostasis in term intrauterine growth retarded rats. *Early Hum Dev.* 79: 93–105.
- Clapp, J. F. 2006. Influence of endurance exercise and diet on human placental development and fetal growth. *Placenta* 27: 527–534.
- Constancia, M., Hemberger, M., Hughes, J., Dean, W., Ferguson-Smith, A., Fundele, R., Stewart, F., Kelsey, G., Fowden, A., Sibley, C., Reik, W. 2002. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature* 417: 945–948.
- Creasy, R.K., Barrett, C.T., de Swiet, M., Kahanpää, K.V., Rudolph, A.M. 1972. Experimental intrauterine growth retardation in the sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 112: 566–574.
- De Prins, F.A. & Van Assche, F.A. 1982. Intrauterine growth retardation and development of endocrine pancreas in the experimental rat. *Biol Neonate* 41: 16–21.
- De Vrijer, B., Regnault, T.R.H., Wilkening, R. B., Meschia, G., Battaglia, F.C. 2004. Placental uptake and transport of ACP, a neutral nonmetabolizable amino acid, in an ovine model of fetal growth restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 287: E1114–E1124.
- Debarge, V.H., Sicot, B., Jaillard, S., Gueorgiva, I., Delelis, A., Deruelle, P., Ducloy, A.S., Storme, L. 2007. The Mechanisms of Pain-Induced Pulmonary Vasoconstriction: An Experimental Study in Fetal Lambs. *Anesth Analg.* 104: 799–806.
- Economides, D.L., Nicolaides, K.H., Campbell, S. 1991. Metabolic and endocrine findings in appropriate and small for gestational age fetuses. *J Perinat Med.* 19: 97–105.
- Fowden, A. L. & Forhead, A. J. 2004. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 127: 515–526.
- Gagnon, R., Rundle, H., Johnston, L., Han, V.K. 1995. Alterations in fetal and placental deoxyribonucleic acid synthesis rates after chronic fetal placental embolization. *Am J Obstet Gynecol.* 172: 1451–1458.
- Galan, H. L., Anthony, R.V., Rigano, S., Parker, T.A., de Vrijer, B., Ferrazzi, E., Wilkening, R. B., Regnault T.R.H. 2005. Fetal hypertension and abnormal Doppler velocimetry in an ovine model of intrauterine growth restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 192: 272–279.
- Gluckman, P.D. & Hanson, M. A. 2004. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 305: 1733–1736.
- Gluckman, P.D. & Hanson, M. A. 2006. The consequences of being born small - an adaptive perspective. *Horm Res.* 65 Suppl 3: 5–14.
- Haque, S. F., Izumi, S.-I., Aikawa, H., Suzuki, T., Matsubayashi, H., Murano, T., Kika, G., Ikeda, M. Goya, K., Makino, T. 2004. Anesthesia and acoustic stress-induced intrauterine growth retardation in mice. *J Reprod Dev.* 50: 185–190.
- Lane, R. H., Ramirez, R.J., Tsirka, A. E., Kloesz, J. L., McLaughlin, M.K., Gruetzmacher, E.M., Devaskar, S. U. 2001. Uteroplacental insufficiency lowers the threshold towards hypoxia-induced cerebral apoptosis in growth-retarded fetal rats. *Brain Research* 895: 186–193.
- Lang, U., Baker, R.S., Khoury, J., Clark, K. E. 2002. Fetal umbilical vascular response to chronic reductions in uteroplacental blood flow in late-term sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 187: 178–186.
- Langley-Evans, S.C., Bellinger, L., McMullen, S. 2005. Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behaviour. *Maternal and Child Nutrition* 1: 142–148.
- Laurent, A., Pelage, J.-P., Wassef, M., Martal, J. 2008. Fertility after bilateral uterine artery embolization in a sheep model. *Fertility and Sterility* 89: 1371–1383.
- Lesage, J., Del-Favero, F., Leonhardt, M., Louvart, H., Maccari, S., Vieau, D., Darnaudery, M. 2004. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. *J Endocrinol.* 181: 291–296.
- Liu, J. P., Baker, J., Perkins, A.S., Robertson, E.J., Efstratiadis, A. 1993. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell* 75: 59–72.
- McMillen, I. C., MacLaughlin, S. M., Muhlhauser, B. S., Gentili, S., Duffield J. L., Morrison, J. L. 2008. Developmental origins of adult health and disease: The role of periconceptional and foetal nutrition. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 102: 82–89.
- Merce, L. T., Barco, M. J., Bau, S. 2004. Reproducibility of the study of placental vascularization by three-dimensional power Doppler. *J Perinat Med.* 32: 228–233.
- Morel, O., Grangé, G., Demange, V., Goffinet, F., Cabrol, D., Tsatsaris, V. 2006a. Intra and inter-observer reproducibility of utero-placental volume and vascularization assessment with three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstetrics & Gynecology* 28: 386.
- Morel, O., Tran, N., Marchal, F., Hennequin, V., Foliguet, B., Villemot, J.P., Thiebaugeorges, O. 2006b. Ultrasound-guided radiofrequency-driven umbilical cord occlusion: an *in-vitro* study. *Ultrasound Obstetrics & Gynecology* 28: 187–192.
- Pelage, J. P., Laurent, A., Wassef, M., Bonneau, M., Germain, D., Rymer, R., Flaud, P., Martal, J., Merland, J.-J. 2002. Uterine artery embolization in sheep: Comparison of acute effects with Polyvinyl Alcohol particles and calibrated microspheres. *Radiology* 224: 436–445.
- Robinson, J. S., Kingston, E.J., Jones, C. T., Thorburn, G. D. 1979. Studies on experimental growth retardation in sheep. The effect of removal of endometrial caruncles on fetal size and metabolism. *J Dev Physiol.* 1: 379–398.
- Schröder, H. J. 2003. Models of fetal growth restriction. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 110: S29–S39.
- Seckl, J.R. 2004. Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur J Endocrinol.* 151: U49–U62.
- Simmons, R. A., Gounis, A.S., Bangalore S.A., Ogata, E. S. 1992. Intrauterine growth retardation: fetal glucose transport is diminished in lung but spared in brain. *Pediatr Res.* 31: 59–63.
- Simmons, R. A., Templeton, L. J., Gertz, S. J. 2001. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes* 50: 2279–2286.
- Thureen, P. J., Trembler, K. A., Meschia, G., Makowski, E. L., Wilkening, R. B. 1992. Placental glucose transport in heat-induced fetal growth retardation. *Am J Physiol.* 263: R578–R585.
- Vuguin, P. M. 2007. Animal Models for Small for Gestational Age and Fetal Programming of Adult Disease. *Hormone Research* 68: 113–123.
- Wigglesworth, J.-S. 1964. Experimental Growth Retardation in the Foetal Rat. *J Pathol Bacteriol.* 88: 1–13.
- Zalud, I. & Shaha, S. 2007. Placental and spiral artery volume and gray-scale value assessment via 3-dimensional sonography in the second trimester. *Journal of Clinical Ultrasound* 35: 504–508.